

Résistance du platane (*Platanus* spp-*ceratocystis fimbriata* f. sp *platani*) au chancre coloré : réactions de défense de la plante et perspectives d'amélioration

Alain Clériveret¹
Ismail El Hadrami²
Richard Bélanger³
Michel Nicole⁴

¹ Institut de recherche pour le développement,
911, avenue d'Agropolis,
BP 5045,
34032 Montpellier cedex 1,
France.
<clerivet@mpl.ird.fr>

² Laboratoire de physiologie végétale,
Université Cadi Ayyad,
Faculté des sciences Semlalia,
Boulevard Prince My Abdellah,
BP 2390,
40001, Marrakech,
Maroc.
<hadrami@ucam.ac.ma>

³ Centre de recherche en horticulture,
Département de phytologie,
Faculté des sciences de l'agriculture et de
l'alimentation,
Université Laval,
Sainte-Foy,
Québec, G1K 7P4,
Canada.
<richard.belanger@plg.ulaval.ca>

⁴ Institut de recherche pour le développement,
911, avenue d'Agropolis,
BP 5045,
34032 Montpellier cedex 1,
France.
<michel.nicole@mpl.ird.fr>

Résumé

Le platane, *Platanus x acerifolia*, est largement répandu dans le sud-ouest et le sud-est de la France mais son avenir est en danger en raison de l'attaque par le champignon *Ceratocystis fimbriata* f. sp *platani*, l'agent causal du chancre coloré. En vue d'améliorer la résistance à la maladie, entre autres en stimulant les réactions de défense de la plante, nous avons identifié certaines de ces réponses chez des jeunes plantes infectées expérimentalement. Des modifications vasculaires (formation de thylls, de gels, accumulation de composés phénoliques), la synthèse et l'accumulation de composés phénoliques préexistants et de phytoalexines sont corrélées à la compartimentation du champignon parasite. Des molécules d'origine biologique (extraits du champignon, acide jasmonique) induisent une forte augmentation de la concentration des phytoalexines corrélée à la réduction des symptômes foliaires. Parallèlement, l'hybridation interspécifique entre des individus résistants appartenant à *P. occidentalis* et d'autres, sensibles, appartenant à *P. orientalis*, en vue de la production de plants de *P. acerifolia* résistants, a permis d'obtenir quelques hybrides qui semblent montrer de bonnes capacités de résistance à l'agent pathogène. Cependant, l'usage de ces méthodes d'amélioration ne sera validé qu'après l'évaluation du niveau et de la durabilité de la résistance acquise vis-à-vis de l'agent du chancre coloré.

Mots clés : Pathologie ; Physiologie végétale.

Summary

Resistance of the plane tree (*Platanus* spp-*Ceratocystis fimbriata* f. sp *platani*) to canker stain: defense reactions and futur prospects for improvement.

The London plane tree, *Platanus x acerifolia* (A) Willd., is widespread in southern Mediterranean countries. This tree is highly regarded for its ornamental properties and its ability to survive in the extreme conditions of the urban environment. However, the tree is the target of many pathogens threatening its survival. The most serious problem involves a fungal disease, canker stain, caused by the Ascomycetaceae *Ceratocystis fimbriata* f. sp *platani* (Ell and Halst) Walter which has already killed 25,000 trees in the south of France since its appearance in 1945. The symptoms of the disease are those of a wilt disease with coloration and creaking of the stem bark.

While the symptomatology and etiology of the disease and preventive control methods have been well described, little was known with respect to plane tree defense responses. The objectives of this study were therefore to investigate specific plane tree defense reactions by using young plants (3-month-old) inoculated with a conidial suspension of *Ceratocystis fimbriata* f. sp *platani* (*Cfp*). This paper summarizes the salient results and suggests some approaches to stimulate plane tree defense responses and improve resistance against the pathogenic fungus. The plane tree reacted to infection by *Cfp* with histological and biochemical responses that included the formation of tyloses, the production of gels, the accumulation of constitutive (hydroxycinnamic acids, flavans and flavonols) and *de novo* phenolic compounds (phytoalexins: the coumarins scopoletin, umbelliferone and xanthoarnol). These phenolic compounds displayed a high level of fungitoxicity and accumulated in infected tissues as well as in neighbouring areas free of infection, presumably as a strategy to prevent the ingress of *Cfp*. However, these defense

responses were not sufficient to keep the plant from being infected because wilt symptoms were observed above the inoculation site but the plant survived since leafy branches were developing under the inoculation site. So, in order to improve the level of disease resistance, treatments with fungal extracts or jasmonic acid were carried out to further elicit plane tree defense reactions. These treatments led to reduced disease symptoms which were correlated with the activation of the lipoxygenase pathway (involved in signal transduction) and the phenylpropanoid pathway (involved in phytoalexins synthesis). In addition, other researches involved interspecific hybridization as an alternate method to improve resistance. To that end, resistant parents were selected in the *P. occidentalis* species, then crossed with those of the *P. orientalis* species susceptible to produce clones of *P. acerifolia*. This approach yielded some clones with a good level of resistance against the canker stain agent. Before any of the two approaches (induced resistance or interspecific hybridization) may be deemed applicable, they must now be evaluated in terms of durability according to their interaction with different factors of disease development such as the age of the plants, the conditions of urban environment, inoculum pressure, *Cfp* fitness and the presence of other parasitic fungi and insects. Moreover, molecular markers for plane tree resistance to *Cfp* need to be developed for a better characterization of resistance since its evaluation is currently based on symptomatology which includes multiple variability factors. In the meantime, only protective measures can reduce the incidence of canker stain in affected areas and prevent its spread to unaffected countries.

Key words: Pathology; Vegetal physiology.

La diversité de notre végétation est une de nos richesses territoriales ; l'ensemble de la communauté mondiale a pris conscience de la nécessité impérieuse d'en assurer la conservation. En effet, pour de nombreuses plantes qui ont déjà subi une forte pression humaine par les voies de l'urbanisation, de l'industrialisation, de l'agriculture intensive et des méfaits de la pollution, des mesures de protection sont en constant développement et la conservation de ces plantes semble pouvoir être maintenant assurée. Pour d'autres, la protection peut se révéler beaucoup plus complexe, particulièrement lorsqu'elles sont soumises à des agressions supplémentaires telles que celles qui sont occasionnées par les agents pathogènes, insectes, bactéries, champignons et virus. À ce titre, un exemple remarquable illustre bien cette problématique : il s'agit de la graphiose de l'orme qui fut l'un des fléaux les plus dévastateurs qu'ait connu le règne végétal depuis le début du XX^e siècle. Ainsi, plusieurs millions d'arbres européens et nord-américains ont été détruits par le champignon *Ophiostoma novo-ulmi* responsable de cette maladie, engendrant des pertes financières considérables, sans compter les préjudices causés aux paysages [1].

Une menace semblable pèse depuis de nombreuses années sur une autre essence ligneuse, le platane, *Platanus x*

acerifolia, dont la survie est menacée par une affection parasitaire proche de la graphiose de l'orme. L'agent pathogène impliqué dans la maladie, le chancre coloré, est le champignon microscopique *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani* (*Cfp*). Bien que la maladie ne semble pas être aussi dévastatrice que la graphiose de l'orme, le caractère insidieux, irréversible et relativement rapide de ses manifestations suscite des craintes très vives pour cet arbre, malgré les contraintes prophylactiques mises en place [2, 3]. En l'absence de source de résistance connue au sein de l'espèce *P. acerifolia* majoritairement implantée en Europe, la situation est devenue fortement préoccupante pour l'avenir du platane. La nécessité de développer de nouvelles approches de lutte s'avère donc indispensable. Dans cet objectif, nous avons identifié, chez de jeunes plants de platane, des mécanismes de défense exprimés suite à l'infection par l'agent pathogène, puis envisagé d'améliorer la résistance à la maladie par des méthodes de stimulation des réactions défensives. Par ailleurs, d'autres travaux explorent les possibilités ouvertes par l'hybridation interspécifique en vue de la production de nouveaux clones de *P. acerifolia* porteurs d'un bon niveau de résistance à la maladie. Les principaux résultats de ces travaux et leurs perspectives de développement sont exposés dans cet article.

Le platane, quelle place dans nos paysages ?

Le platane, en particulier l'espèce *P. acerifolia* (Ait.) Willd., est largement répandu dans une bonne partie du monde, démontrant ainsi ses extraordinaires capacités d'adaptation. En Europe, particulièrement en Espagne, en Grèce, en Italie et dans le Tessin suisse, des plantations à caractère plus ou moins forestier se développent progressivement. En France, c'est au plan ornemental que l'utilisation du platane est la plus marquante en raison de sa vigueur et de sa croissance rapide. En milieu urbain, cet arbre est abondamment planté dans les grandes villes du nord et il constitue l'une des essences majeures des régions Midi-Pyrénées, Languedoc-Roussillon et Provence-Alpes-Côte-d'Azur. Malgré les conditions environnementales agressives des villes liées aux facteurs de pollution, de sols défavorables et de déficit hydrique, le platane se maintient tout en subissant ces contraintes aux conséquences plus ou moins marquées sur sa morphologie et sa vigueur sans mettre réellement sa vie en danger [4, 5]. Dans les zones rurales de ces régions, le platane excelle dans les alignements de bords de routes, de rivières et de canaux où il participe à la fixation des berges.

Face aux multiples agressions qui menacent le platane, sa protection et sa conservation doivent donc être assurées et sa survie sauvegardée pour préserver l'une de nos richesses végétales.

Le chancre coloré, une maladie mortelle du platane

Durant la seconde guerre mondiale, le champignon microscopique *C. fimbriata* Ell. et Halsted f. sp *platani* Walter (Ascomycète, Ophiostomatale), déjà connu aux États-Unis en tant qu'agent pathogène du platane [6-8], a été accidentellement introduit en Europe et, depuis cette période, sa progression n'a cessé de préoccuper les phytopathologistes. En effet, depuis son apparition dans le sud de la France en 1945, la maladie a déjà causé la mort d'environ 25 000 arbres et, pour citer les résultats d'enquêtes phytosanitaires récentes, la manifestation de la maladie détectée en 1992 dans la région lyonnaise a déjà engendré des pertes considérables évaluées à plus de 200 arbres.

La contamination du platane par les spores du champignon a lieu à la faveur de blessures accidentelles occasionnées aux branches, au tronc ou aux racines, tandis que les barrières naturelles de l'hôte semblent être un obstacle que l'agent pathogène ne peut pas franchir.

A des stades relativement avancés de la maladie, l'infection se manifeste par de larges bandes à l'aspect de flammes bleu noir mêlées d'orange (Pl. 1, photos 1a et 1b), le craquellement de l'écorce et le dessèchement des feuilles (Pl. 1, photos 2 et 3). La progression du parasite, qui se fait principalement par les tissus lignifiés, peut atteindre 2 à 2,5 m par an et provoquer la mort d'un arbre de 30 à 40 cm de diamètre en 2 à 3 ans et celle d'un arbre plus âgé dans un délai de 3 à 7 ans, selon la localisation de la contamination et la taille de l'arbre.

La dissémination de la maladie est assurée par des spores de résistance (chlamydospores) (Pl. 2, photo 3) véhiculées par les outils de coupe et par les sciures [9]. Aucun traitement curatif n'est aujourd'hui susceptible d'arrêter une infection amorcée : la lutte reste essentiellement préventive et accompagnée de pratiques d'assainissement [9].

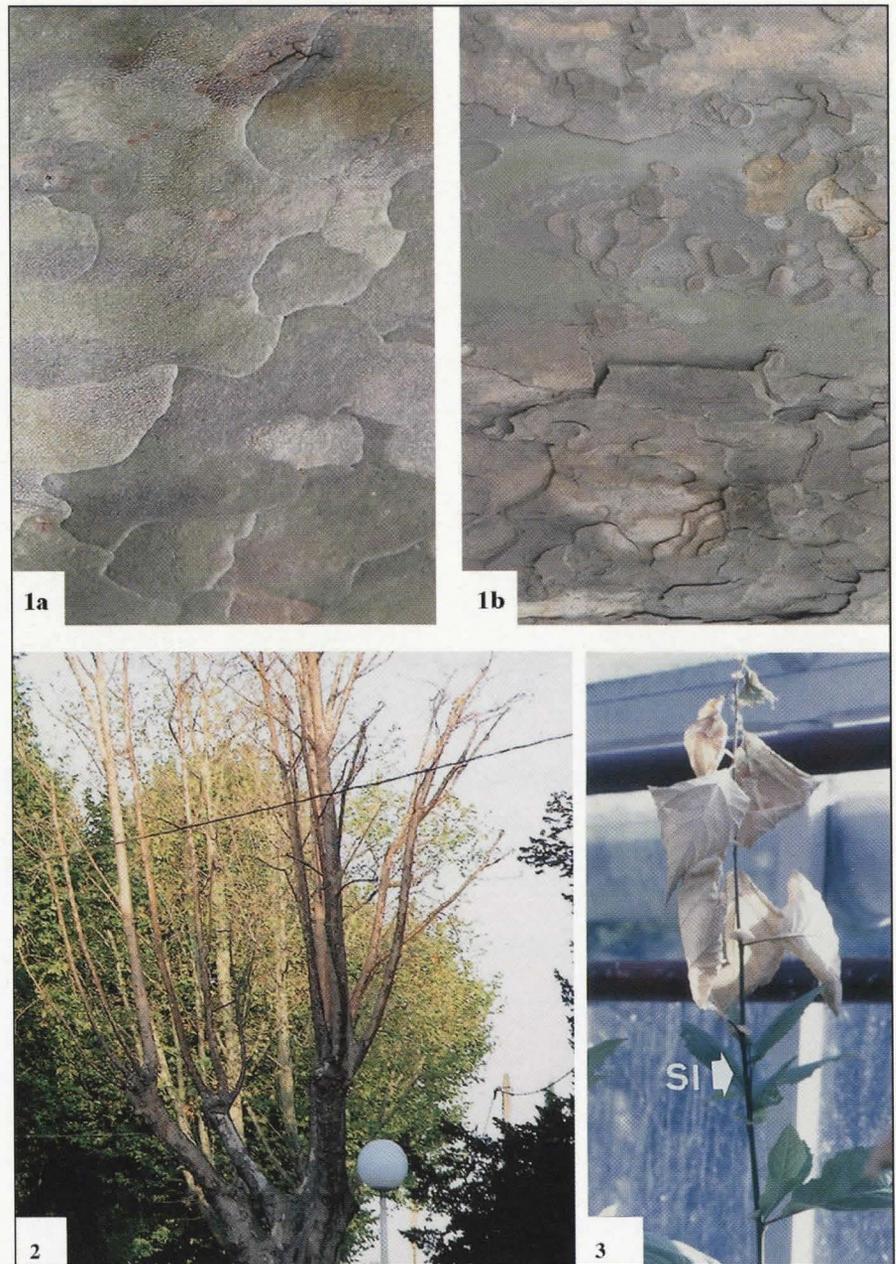


Planche 1. Symptômes du chancre coloré chez *Platanus x acerifolia*. (1a, b) coloration corticale et craquellement de l'écorce ; (2) arbre défolié ; (3) symptômes du dessèchement foliaire chez un plant de *Platanus x acerifolia* âgé de 3 mois, 7 jours après l'inoculation par *Ceratocystis fimbriata* f. sp *platani* (SI : site d'inoculation).

Plate 1. Canker stain symptoms on *Platanus x acerifolia*. (1a, b) bark coloration and cracking; (2) tree without leaves; (3) leaf wilting in 3-month-old plants of *Platanus x acerifolia*, 7 days after inoculation with *Ceratocystis fimbriata* f. sp *platani* (SI: inoculation site).

Réaction du platane à l'infection par l'agent du chancre coloré

Compte tenu de notre démarche expérimentale, l'expérimentation sur des arbres

présentant de trop grandes difficultés, nous avons choisi comme modèle de jeunes plants de *P. acerifolia* issus de semis âgés de 3 mois et qui, à ce stade de croissance, sont relativement réfractaires au développement de la maladie. Pour prendre en compte la localisation naturelle essentiellement vasculaire du para-

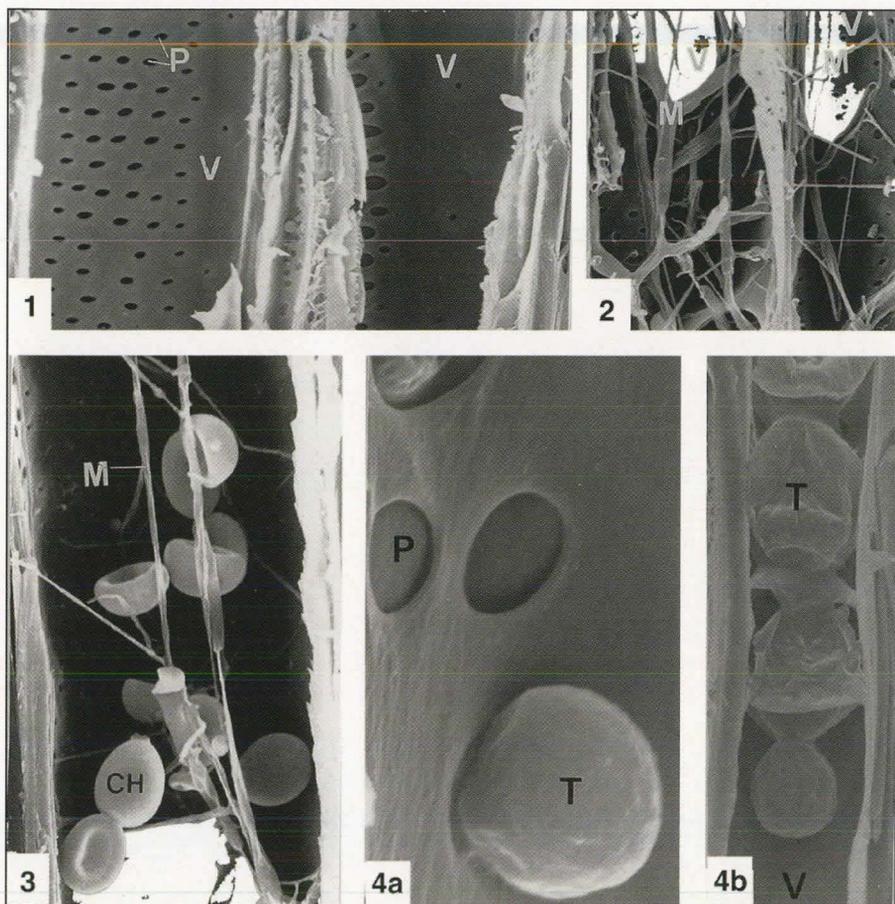


Planche 2. (1) vaisseaux non contaminés de jeunes plants (3 mois) de *Platanus x acerifolia* (microscopie à balayage, x 600) ; (2) hyphes de *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani* dans les vaisseaux de jeunes plants de *Platanus x acerifolia* 8 jours après inoculation (microscopie à balayage, x 660) ; (3) hyphes et chlamydo-spores de *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani* dans les vaisseaux de jeunes plants (3 mois) de *Platanus x acerifolia* 12 jours après inoculation (microscopie à balayage, x 3 300) ; (4a, b) thylles dans un vaisseau de *Platanus x acerifolia*, 10 jours après inoculation par *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani* (microscopie à balayage, a : x 1 500, b : x 650). V : vaisseau ; P : ponctuation ; M : mycélium ; CH : chlamydo-spore ; T : thylle.

Plate 2. (1) control vessels of 3-month-old plants of *Platanus x acerifolia* (scanning microscopy x 600); (2) mycelium of *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani* in vessels of 3-month-old plants of *Platanus x acerifolia* 8 days after inoculation (scanning microscopy, x 660); (3) mycelium and chlamydospores of *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani* in vessels of 3-month-old plants of *Platanus x acerifolia* 12 days after inoculation (scanning microscopy, x 3.300); (4a, b) thylles in a vessel of *Platanus x acerifolia*, 10 days after inoculation with *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani* (scanning microscopy, a : x 1.500, b : x 650). V: vessel; P: punctuation; M: mycelium; CH: chlamydo-spore; T: thylle.

site, nous avons pratiqué l'infection expérimentale des plants par micro-injection d'une suspension titrée de conidies, à mi-hauteur de la tige, directement dans les tissus ligneux de la plante. Au cours de l'infection de la plante, nous avons conduit, d'une part, des analyses biochimiques orientées vers la recherche de modifications du métabolisme des composés phénoliques, bien connus pour leur intervention dans les réactions de défense et, d'autre part, des investigations microscopiques pour observer les réactions tissulaires et cellulaires liées à l'invasion fongique.

L'inoculation expérimentale des plants est suivie de la colonisation des tissus de

l'hôte à partir du point d'injection des conidies et, dès le 2^e jour après l'infection, des modifications cellulaires et biochimiques constituant des barrières naturelles sont érigées contre l'agent pathogène.

Barrières physiques contre la progression du champignon

Dans les vaisseaux colonisés par le *Cfp* (Pl. 2, photo 2), des thylles formées par l'excroissance des cellules associées aux vaisseaux (Pl. 2, photos 4a et 4b) et des gels contenant des composés riches en pectine et en cellulose s'accumulent et

provoquent l'occlusion progressive des éléments conducteurs de la sève brute. Par ailleurs, la paroi des vaisseaux se recouvre de verrucosités (Pl. 3, photo 4) imprégnées de composés phénoliques, et les ponctuations sont fréquemment obstruées par une couche continue de matériel de nature phénolique [10, 11].

L'ensemble de ces modifications vasculaires constituent des barrières physiques qui limitent la progression longitudinale et transversale de l'agent pathogène dans les tissus de la tige inoculée.

Barrières chimiques contre la progression du champignon

Suite à l'inoculation de la tige par le *Cfp*, le métabolisme phénolique de la plante est fortement activé dès le 2^e jour suivant l'injection de l'inoculum. Cette réaction métabolique se poursuit et s'amplifie jusqu'au 8^e jour suivant la contamination [12].

L'analyse des extraits phénoliques purifiés issus de tiges saines et contaminées, par chromatographie sur couche mince (CCM) et par chromatographie liquide haute pression (CLHP), a montré que des composés phénoliques s'accumulent dans l'écorce et surtout dans les tissus vasculaires de la zone contaminée, mais aussi à un niveau moindre dans les tissus environnants et même à distance dans des zones apparemment non encore envahies par l'agent pathogène. Il s'agit de composés phénoliques constitutifs, c'est-à-dire déjà présents avant l'infection : des dérivés hydroxycinnamiques (acides 3-p-coumaroylquinique, néochlorogénique et chlorogénique), des flavanes (flavan-3-ols et proanthocyanidines) (figure 1) [13] et des flavonols (isoquercitrine et quercétine 7-glucoside). Parallèlement, d'autres composés qui ne sont pas identifiés chez les plants témoins (non inoculés) s'accumulent selon une cinétique semblable. Ce sont trois coumarines : — la scopolétine, l'umbelliféronne [12] et le xanthoarnol (dihydrofuranocoumarine) [14] (figure 2) — des phytoalexines dont la toxicité pour le champignon pathogène a été montrée par des tests *in vitro* [12, 14].

Certains de ces composés phénoliques, particulièrement les flavanes et les coumarines, ont été mis en évidence par des techniques d'histochimie et d'observation en microscopie à fluorescence dans les tissus infectés et particulièrement au niveau des vaisseaux, dans les thylles et les gels [10] (Pl. 3, figures 1, 2 et 3).

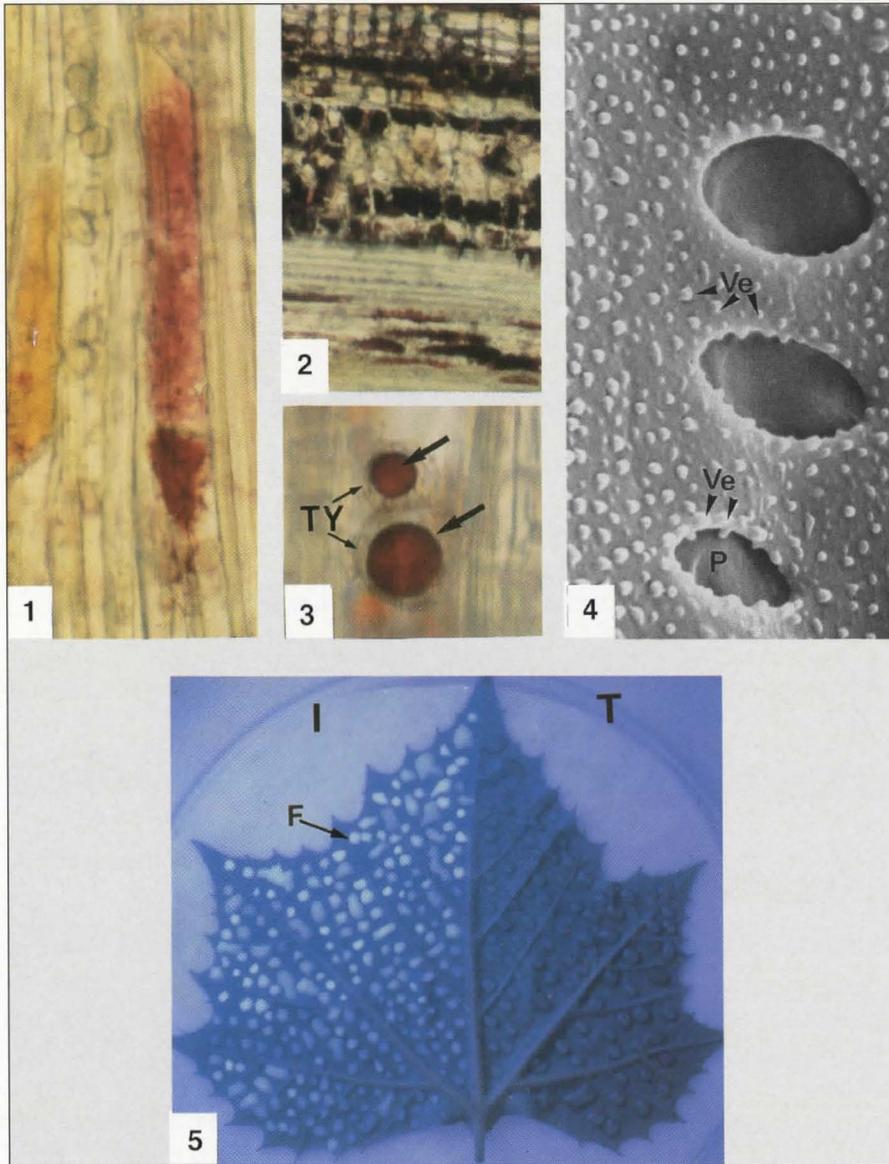


Planche 3. Révélation par la vanilline chlorhydrique de flavanes (1) dans les gels ; (2) dans l'écorce et le tissu ligneux ; et (3) dans les thylles, 10 jours après inoculation par *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani* (microscopie photonique x 500 (1), x 250 (2), x 1 500 (3)) ; (4) Verrucosités pariétales dans un vaisseau de *Platanus x acerifolia* 14 jours après inoculation par *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani* (microscopie à balayage x 3 300) ; (5) Observation sous UV (254 nm) d'une feuille de *Platanus occidentalis*, 32 heures après le dépôt de l'inoculum de *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani*. TY : thylle ; Ve : verrucosité ; P : ponctuation. I : partie inoculée de la feuille ; T : partie traitée par l'eau (témoin) ; (F) spots fluorescents.

Plate 3. Flavan revelation with vanillin-HCl (1) in gels ; (2) in bark and lignified tissue ; (3) in thylles, 10 days after inoculation with *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani* (light microscopy x 500 (1), x 250 (2), x 1.500 (3)) ; (4) Warts in a vessel of *Platanus x acerifolia* 14 days after inoculation with *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani* (scanning microscopy, x 3.300) ; (5) Observation under UV light (254 nm) of a leaf of *Platanus occidentalis*, 32 hours after deposition of inoculum of *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani*. TY: thylle; Ve: wart; P: punctation. I: inoculated part of leaf; T: control part (water treatment); (F) fluorescent spots.

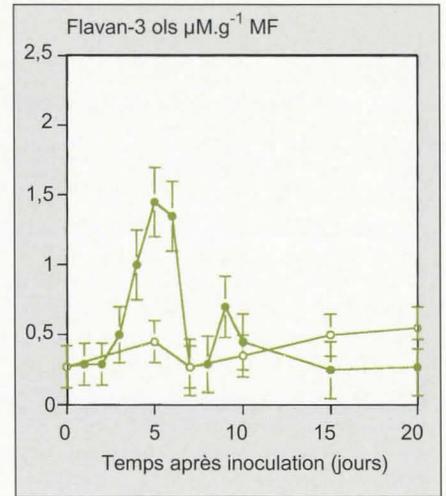


Figure 1. Quantification par CLHP des flavan-3-ols accumulés dans la tige de *Platanus x acerifolia* —○— plant témoin (non inoculé) ; —●— plant inoculé par *Ceratocystis fimbriata* f.sp. *platani*.

Figure 1. HPLC quantification of flavan-3-ols accumulated in *Platanus x acerifolia* stem —○— control plant (uninoculated); —●— plant inoculated with *Ceratocystis fimbriata* f.sp. *platani*.

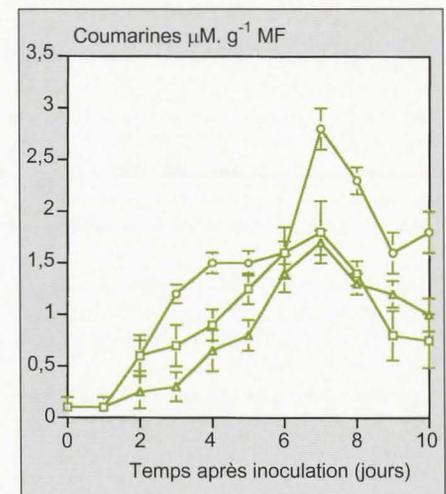


Figure 2. Quantification par CLHP des phytoalexines accumulées dans la tige de *Platanus x acerifolia* inoculée par *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani*.

Xanthoarnol —△— ; umbelliférone —□— ; scopolétine —○—

Figure 2. HPLC quantification of phytoalexins accumulated in stem of *Platanus x acerifolia* inoculated with *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani*.

Xanthoarnol —△— ; umbelliférone —□— ; scopolétine —○—

Efficacité de ces barrières chimiques et physiques

Bien que les symptômes du chancre coloré (nécrose de la tige et dessèchement des feuilles) s'expriment chez les plants de platane inoculés expérimentalement, leur survie n'est pas compromise car les bourgeons axillaires situés au-dessous de la zone nécrosée développent rapidement de nouvelles tiges exemptes du champignon parasite et de symptômes de la maladie. Ces plantes manifestent donc un certain niveau de tolérance à la maladie que leur confère la mise en place des réactions de défense et notamment celles qui sont liées aux modifications biochimiques et cellulaires.

Les métabolites phénoliques sont bien connus pour être généralement toxiques vis-à-vis des microorganismes phytopathogènes [15, 16]. Chez le platane, c'est le cas pour les flavanes et leurs produits de polymérisation, mais aussi pour la scopolétine, l'umbelliférone et le xanthoarnol puisqu'au niveau d'accumulation atteint dans les tissus contaminés, ces trois coumarines inhibent, *in vitro*, la croissance des hyphes et la germination des conidies [12, 14]. En raison de leur fongitoxicité, les composés phénoliques accumulés dans les tissus de la zone contaminée, particulièrement au niveau de la paroi des vaisseaux, des thylles et des gels créent donc un environnement défavorable au champignon parasite. L'activité antifongique de ces composés est aussi renforcée par l'action mécanique des thylles et des gels intravasculaires qui constituent des obstacles à la progression des hyphes non seulement dans les vaisseaux déjà envahis mais aussi dans les cellules situées à leur voisinage immédiat. Le développement du champignon est alors limité de façon exclusive aux tissus nécrosés situés au point d'inoculation et à leur proximité immédiate, mais cette compartimentation s'accompagne néanmoins de l'apparition des symptômes de la maladie. L'obstruction des vaisseaux qui entrave la progression des hyphes mais ralentit aussi la circulation de la sève est assurément impliquée dans les phénomènes de flétrissement, sans que l'on puisse exclure également l'action synergique d'enzymes et de toxines que pourraient produire le *Cfb*, ces propriétés ayant déjà été signalées pour cet agent pathogène [17-19].

Les réactions de défense mises en place ne sont donc pas suffisantes pour s'opposer à l'action néfaste du champignon et assurer la protection totale de la plante. Dans ce contexte, bien que les phytoalexines aient une forte activité antifongique, leur synthèse est probablement trop tardive et leur niveau d'accumulation trop faible, compte tenu des capacités du champignon à dégrader ces composés [12], pour que l'effet de cette réaction de défense, s'ajoutant à celui des formations obstructives vasculaires, suffise à protéger totalement l'hôte.

En revanche, chez des plants résistants d'une autre espèce, *P. occidentalis*, indigène aux États-Unis, les phytoalexines semblent occuper un rôle central dans la défense vis-à-vis de l'agent du chancre coloré. En effet, la synthèse des mêmes phytoalexines débute dès 32 h post-inoculation (48 h chez *P. acerifolia*) et leur niveau maximal d'accumulation est atteint dès 48 h (7 à 8 jours chez *P. acerifolia*) pour une concentration environ 150 fois supérieure à celle qui est mesurée chez l'espèce sensible *P. acerifolia* [20]. La résistance des plants de l'espèce *P. occidentalis* peut être ainsi corrélée avec la rapidité de réponse du métabolisme phénolique et le niveau d'accumulation des composés antimicrobiens.

Stratégies d'amélioration de la résistance du platane au chancre coloré

En raison de la faible variabilité génétique de *P. acerifolia*, propagé en France le plus souvent par boutures depuis son introduction vers 1750, la recherche d'une source naturelle de résistance au sein de cette espèce a peu de chances de succès. Dans ce contexte, diverses voies sont actuellement explorées pour tenter d'améliorer la résistance de *P. acerifolia* à l'agent du chancre coloré. La transformation génétique ne pouvant encore s'envisager pour le platane, d'autres alternatives ont été choisies ; elles se réfèrent à la recherche d'activateurs des réactions de défense et aux stratégies classiques de l'hybridation interspécifique. Compte tenu de l'expression de réactions de défense relevant de l'activation du métabolisme phénolique et du niveau

d'implication des phytoalexines dans la résistance observée chez *P. occidentalis* (même si ces molécules ne sont probablement pas les seules en cause dans ce phénomène), la mise au point d'une stratégie visant à amplifier la synthèse de ces composés antimicrobiens pour améliorer la résistance de l'espèce sensible *P. acerifolia* est un axe de recherche que nous avons choisi d'explorer.

Chez *P. acerifolia*, la synthèse des phytoalexines peut être fortement stimulée et conduire à de hauts niveaux d'accumulation par l'application de molécules d'origine naturelle avant l'inoculation expérimentale par l'agent pathogène. Il en est ainsi après l'application foliaire d'une glycoprotéine isolée de l'agent pathogène [21] ou de l'application d'acide jasmonique [22] ou encore après le traitement successif des feuilles par ces deux activateurs biologiques [23]. Dans ces différentes conditions, le niveau d'accumulation des phytoalexines est multiplié par un facteur 3,5 dès 48 h après l'inoculation (par comparaison avec les plantes inoculées sans avoir été préalablement traitées) (figure 3). Parallèlement, la gravité des symptômes foliaires et l'extension du parasite sont considérablement réduites [23]. Bien que ces traitements aient donné des résultats très intéressants dans le cas de feuilles isolées, la validation de la méthode est à confirmer dans le cas d'une inoculation au niveau de la tige. Par ailleurs, des technologies semblables qui ont déjà fait leurs preuves pour d'autres modèles d'interaction plantes-microorganismes et qui font appel à des molécules moins coûteuses et plus faciles d'emploi comme la silice [24] ou à l'utilisation de microorganismes antagonistes [25, 26] pourraient constituer d'autres alternatives dont l'impact sur l'établissement de l'interaction platane-agent du chancre coloré reste à étudier.

Une autre voie de recherche pour l'amélioration de la résistance est bien engagée depuis 1990 [27]. Elle prend en compte la découverte aux États-Unis, dans l'État du Mississippi, d'une source de résistance au sein de l'espèce *P. occidentalis*, et de son introduction en France sous forme de boutures. Malheureusement, la substitution progressive de notre platane européen par l'espèce américaine ne peut être envisagée en raison de ses difficultés d'adaptation et de sa plus forte sensibilité à l'antracnose [28]. Aussi, cette source de résistance est-elle actuellement exploitée à travers un programme d'hybridation interspécifique qui prend en compte le

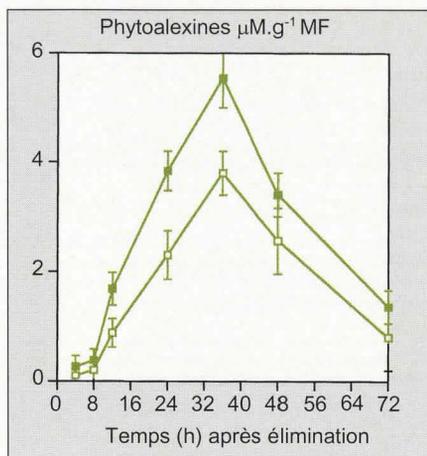


Figure 3. Quantification par CLHP des phytoalexines accumulées dans les feuilles de *Platanus x acerifolia* après traitement par un éliciteur (solution à 0,5 µg d'équivalent en protéines d'une glycoprotéine extraite de *Ceratocystis fimbriata* f.sp. *platani*) et acide jasmonique (20 µM). —□— : feuilles non traitées par l'acide jasmonique avant l'application de l'éliciteur ; —■— : feuilles traitées par l'acide jasmonique avant l'application de l'éliciteur.

Figure 3. HPLC quantification of phytoalexins accumulated in leaves of *Platanus x acerifolia* after elicitor treatment (solution with 0,5 µg protein equivalent of a glycoprotein from *Ceratocystis fimbriata* f.sp. *platani*) and jasmonic acid (20 µM). —□— : leaves without jasmonic acid treatment before elicitor application; —■— : leaves treated with jasmonic acid before elicitor application.

caractère hybride de *P. acerifolia* (*P. occidentalis* L x *P. orientalis* L.) avec pour objectif le transfert de la résistance connue chez certains clones de *P. occidentalis* par l'hybridation avec *P. orientalis* pour obtenir une descendance de *P. acerifolia* dans laquelle la résistance aurait été transmise chez certains individus [27]. Les premiers résultats révèlent que, parmi les milliers d'hybrides obtenus, après plusieurs inoculations expérimentales (jusqu'à 12 inoculations), quelques-uns semblent montrer de bonnes capacités de résistance au chancre coloré mais aussi une certaine tolérance à d'autres maladies comme l'antracnose, l'oidium ou à un insecte, le tigre [29]. L'aide pour une sélection facilitée et accélérée pourrait être apportée par un test *in vitro* considérant la capacité de rapidité de synthèse et d'accumulation des phytoalexines chez les plants résistants. En effet, le dépôt d'une suspension conidienne sur la surface foliaire provoque l'émission d'une fluorescence caractéristique lors de l'exposition au rayonnement ultra-violet (250 et 360 nm) (*Pl. 3, photo 5*). La réaction, détectable dès 4 h après

l'inoculation chez les plantes résistantes permet de les différencier rapidement des plantes sensibles chez qui la fluorescence n'est perceptible qu'après 48 h [20].

Conclusion

Les réactions de défense du platane à l'agent du chancre coloré sont maintenant relativement bien connues chez de jeunes plants sensibles de *P. acerifolia* et chez des feuilles prélevées sur des plants résistants de *P. occidentalis*, en termes (i) d'expression du métabolisme phénolique à travers l'accumulation de composés phénoliques préexistants et la synthèse et l'accumulation de phytoalexines à fort pouvoir antifongique, et (ii) de modifications vasculaires essentiellement marquées par la formation de thylls et de gels riches en composés phénoliques, par l'accumulation de produits de dégradations des parois végétales et par le dépôt de matériel de nature phénolique sur la paroi des vaisseaux. L'ensemble de ces mécanismes de défense contribue donc à limiter l'extension du champignon parasite en créant un environnement défavorable dans lequel les composés phénoliques, et particulièrement les phytoalexines, semblent jouer un rôle majeur. Compte tenu de l'ensemble des résultats, des voies prometteuses pour la recherche de l'amélioration de la résistance au chancre coloré sont maintenant ouvertes, tant par des technologies faisant appel à la stimulation des réactions de défense que par les technologies relatives à l'hybridation interspécifique. Cependant, il est indispensable de mener parallèlement une étude approfondie sur le niveau et la durabilité de la résistance qui aurait été stimulée ou introduite chez *P. acerifolia*, en prenant en compte l'âge des individus, leur implantation dans un environnement soumis à de fortes contraintes, la pression d'*inoculum*, la variabilité éventuelle du pouvoir pathogène du champignon parasite et la présence d'autres agents pathogènes. Dans ce cadre de travail, l'identification de marqueurs moléculaires de la résistance apportera les outils complémentaires et performants nécessaires pour évaluer le niveau et la durabilité de la résistance au *Cfp* qui pourrait être conférée au platane à travers l'application des méthodes d'amélioration de la résistance à cet agent pathogène ■

Remerciements

Les auteurs remercient l'Agence universitaire de la Francophonie (AUF) pour son soutien dans le cadre du programme 99/PAS/24 et Monsieur Francis Maire, arboriste conseil (Le jardin du Chêne, RN 100, 84 400, Apt, France) pour nous avoir gracieusement fourni les photographies des symptômes du chancre coloré.

Références

1. Brasier CM. *Ophiostoma novo-ulmi* sp. nov., causative agent of current Dutch elm disease pandemics. *Mycopathologia* 1991 ; 115 : 151-6.
2. Grosclaude C, Olivier R, Pizzuto JC, Romiti C. Le chancre coloré du platane. *P. H. M. Revue Horticole* 1991 ; 317 : 42-4.
3. Grosclaude C, Olivier R, Romiti C. Chancre coloré du patane, comment l'agent responsable peut survivre dans le sol. *Phytoma* 1996 ; 479 : 41-2.
4. Bordas J. Suites d'observations et de traitements sur les platanes dépérissants d'Annecy. *CR Acad Agric Fr* 1955 ; 41 : 563-6.
5. Vigouroux A. Les « dépérissements des platanes » : causes, importance, mesures envisageables. *Rev For Fr* 1979 ; 31 : 28-39.
6. Crandal BS. *Endoconidiophora fimbriata* on sycamore. *Plant Dis Rep* 1935 ; 90 : 98.
7. Jackson LWR, Sleeth B. A new disease affecting *Platanus orientalis* in the eastern United States. *Phytopathology* 1935 ; 25 : 22.
8. Pirrone PP. London plane blight. *News Bulletin of New Jersey Agricultural Experimental Station Nursey Disease* 1938 ; 15 : 21.
9. Vigouroux A. Les maladies du platane, avec référence particulière au chancre coloré ; situation actuelle en France. *Bulletin OEPP* 1986 ; 16 : 527-32.
10. Clériveret A, El Modafar C. Vascular modifications in *Platanus acerifolia* inoculated with *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani*. *Eur J Forest Pathol* 1994 ; 24 : 1-10.
11. Clériveret A, Déon V, Alami I, Lopez F, Geiger JP, Nicole M. Tyloses and gels associated with cellulose accumulation in vessels are responses of plane tree seedlings (*Platanus acerifolia*) to the vascular fungus *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani*. *Trees* 2000 ; 15 : 25-31.
12. El Modafar C, Clériveret A, Fleuriet A, Macheix JJ. Inoculation of *Platanus acerifolia* with *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani* induces scopoletine and umbelliferone accumulation. *Phytochemistry* 1993 ; 34 : 1271-6.
13. El Modafar C, Clériveret A, Macheix JJ. Flavon accumulation in stem of *Platanus acerifolia* seedlings inoculated with *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani*, the canker stain disease agent. *Can J Bot* 1996 ; 74 : 1982-7.
14. Alami I, Clériveret A, Macheix JJ. Elicitation of *Platanus acerifolia* cell-suspension cultures induces the synthesis of xanthoarnol, a new dihydrofuranocoumarin phytoalexin. *Phytochemistry* 1999 ; 9 : 1-4.

15. Clériver A, Alami I, Breton F, Garcia D, Sannier C. Les composés phénoliques et la résistance des plantes aux agents pathogènes. *Acta Bot Gallica* 1996 ; 143 : 531-8.
16. Somssich IE, Hahlbrock K. Pathogen defence in plants - a paradigm of biological complexity. *Trends Plant Sci* 1998 ; 3 : 86-90.
17. Uritani J, Stahmann MA. Pectolyse enzymes of *Ceratocystis fimbriata*. *Phytopathology* 1961 ; 51 : 277-85.
18. Mutto S, Ferrata M, D'Ambra V. Ricerche al microscopio elettronico sul legno di platano invaso da *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani*. *Phytopathol Z* 1978 ; 91 : 39-51.
19. Ake S, Darbob H, Grillet L, Lambert C. Fimbriatan, a protein from *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani*. *Phytochemistry* 1992 ; 31 : 1199-202.
20. El Modafar C, Clériver A, Vigouroux A, Maicheix JJ. Inoculation of resistant and susceptible leaves of *Platanus* spp by *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani* induces highly differential responses. *Eur J Plant Pathol* 1995 ; 101 : 503-9.
21. Alami I, Clériver A, Mari S. A glycoprotein from *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani* triggers phytoalexin synthesis in *Platanus x acerifolia* cell-suspension cultures. *Phytochemistry* 1998 ; 48 : 771-6.
22. Alami I, Jouy N, Clériver A. The lipoxygenase pathway is involved in elicitor-induced phytoalexin accumulation in plane tree (*Platanus acerifolia*) cell-suspension cultures. *J Phytopathol* 1999 ; 147 : 515-9.
23. Clériver A, Alami I. Effects of jasmonic acid and of an elicitor of *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani* on the accumulation of phytoalexins in leaves of susceptible and resistant plane trees. *Plant Sci* 1999 ; 148 : 105-10.
24. Bélanger R, Bowen PA, Ehret DL, Menzies JG. Soluble silicon. Its role in crop and disease management of greenhouse crops. *Plant Dis* 1995 ; 79 : 329-36.
25. Ramamoorthy V, Viswanathan R, Raguchander T, Prakasam V, Samiyappan R. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop protect* 2001 ; 20 : 1-11.
26. Corné MJ, Pieterse JA, Pelt JA, et al. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance : triggering, signalling and expression. *Eur J Plant Pathol* 2001 ; 107 : 51-61.
27. Vigouroux A. Preliminary results for obtaining a plane-tree resistant to canker stain and adapted to European conditions. *Acta Horticulturae* (ISHS) 1992 ; 320 : 91-6.
28. Panconesi A. Canker stain of plane trees : a serious danger to urban plantings in Europe. *J Plant Pathol* 1999 ; 81 : 3-15.
29. Vigouroux A, Olivier R. *Chancre coloré du platane : arrivée des premiers plants résistants*. 5^e Congrès de la Société française de phytopathologie (résumés des communications), Angers 2001, 159 p.